痛泻要方拆方对腹泻型肠易激综合征大鼠脑肠肽的影响

10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0510

王科凯[1] 杨焱麟[2] 周彦妮[1] 肖瑾[1] 谢欣[1] 吴芹萍[1] 陈敏[3]*

基金项目：国家自然科学基金（课题编号：81774321）；国家重点研发项目“中医药现代化研究”重点专项（课题编号：2019YFC1709004）

1.610072 四川省成都市，成都中医药大学 2. 643000 四川省自贡市，自贡市第五人民医院 3. 610075 四川省成都市，成都中医药大学附属医院

*通信作者：陈敏，副主任医师；E-mail：cm@cdutcm.edu.cn

【摘要】 背景 肠易激综合征(IBS)是临床常见的肠道疾病，使用痛泻要方治疗确有疗效，但拆分方剂中主要显效药物的相关研究欠缺。**目的** 观察拆解痛泻要方对腹泻型肠易激综合征(IBS-D)大鼠结肠、海马体组织脑源性神经营养因子（BDNF）、P 物质（SP）表达的影响。**方法** 成年雄性 Wistar 大鼠 32 只，随机分为空白组、模型组、白芍防风组（B-F）和陈皮白术组（C-B），每组 8 只。除空白组外，其余各组均使用结直肠扩张+慢性束缚应激法建立 IBS-D 大鼠模型。B-F 组采用白芍防风中药浸膏治疗，C-B 组采用陈皮白术中药浸膏治疗，空白组和模型组采用蒸馏水灌胃，治疗周期为 14 天。比较治疗后大鼠体重、Bristol 粪便分型、腹部撤退反射评分（AWR）、结肠及海马体组织中 BDNF 和 SP 表达的组间差异。**结果** 与模型组比较，治疗后，B-F 组和 C-B 组大鼠体重增加（P<0.05）、Bristol 粪便评分降低（P＜0.05）；B-F 组大鼠 AWR 评分降低（P＜0.05）、海马体 BDNF 表达升高（P＜0.05）、SP 表达下降（P＜0.05）；结肠组织 BDNF 和 SP 表达均下降（P＜0.05）。**结论** 痛泻要方中白芍防风合用可明显缓解 IBS-D 大鼠肠道高敏感、腹泻症状，可能与其调节相关脑肠肽平衡的作用有关。

关键词：腹泻型肠易激综合征（IBS-D）；痛泻要方；内脏高敏；BDNF；SP

Effects of Tong-Xie-Yao-Fang (TXYF) Disassembled Recipes on Brain-gut Peptide in Diarrhea-type Irritable Bowel Syndrome(IBS-D) Rats

*Wang Ke-kai, Yang Yan-lin, Zhou Yan-ni, Xiao Jin, Wu Qin-ping, Xie Xin, Chen Min**

1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, China

2. Zigong Fifth People's Hospital, Zigong 643000, China

3. Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China

Corresponding author: Chen Min, Associate chief physician; E-mail：cm@cdutcm.edu.cn

Abstract：Background Irritable bowel syndrome(IBS) is a common clinical intestinal disease. The treatment of Tong-Xie-Yao-Fang (TXYF) is indeed effective, but there is a lack of relevant research on the main effective drugs in the split prescription. Objective To investigate the effect of TXYF disassembled recipes on the expressions of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and Substance P (SP) in colon and hippocampus of diarrhea-type irritable bowel syndrome (IBS-D)

基金项目：国家自然科学基金（课题编号：81774321）；国家重点研发项目“中医药现代化研究”重点专项（课题编号：2019YFC1709004）。

作者简介：王科凯（1997-），男（汉族），四川成都人，在读硕士研究生，研究方向：中医药防治肛肠疾病的临床与实验研究，E-mail：1756585890@qq.com。

*通讯作者：陈敏（1982-），女（汉族），福建莆田人，副主任医师，博士研究生导师，博士学位，研究方向：中医药防治肛肠疾病的临床与实验研究，E-mail：cm@cdutcm.edu.cn。

rats. Methods 32 healthy adult male Wistar rats were selected and randomly divided into blank group (n=8), model group (n=8), Radix Paeoniae Alba- Radix Saposhnikoviae group(B-F) (n=8) and Pericarpium Citri Reticulatae- Rhizoma Atractylodis Macrocephalae group(C-B) (n=8). Except the blank group, IBS-D rat models were established by colorectal dilatation + chronic restraint stress in other groups. B-F group were treated with Radix Paeoniae Alba- Radix Saposhnikoviae (white peony root and divaricate saposhnikovia root) extractum and C-B group were treated with Pericarpium Citri Reticulatae- Rhizoma Atractylodis Macrocephalae (dried tangerine peel and largehead atractylodes rhizome) extractum, the blank group and model group were perfused with distilled water. The treatment cycle was 14 days. Compared in the body weight, the Bristol stool score and abdominal withdrawal reflex (AWR) score, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and substance P (SP) protein expressions in colon and hippocampus after treatment. Result After treatment, the body weight increased (P<0.05) and the Bristol score decreased (P<0.05) of the B-F group and the C-B group compared to those in the model group. Compared with the model group, the AWR score of the rats in the B-F group was decreased (P<0.05), the BDNF expression in hippocampal of the B-F group was increased (P< 0.05) while the SP were decreased (P< 0.05); the expressions of BDNF and SP in the colon tissue decreased (P<0.05). Conclusion Radix Paeoniae Alba and Radix Saposhnikoviae in TXYF can significantly alleviate the symptoms of intestinal hypersensitivity and diarrhea in IBS-D rats, which may be related to the regulation of brain gut peptide balance.

Keywords: Diarrhea-type irritable bowel syndrome (IBS-D); Tong-Xie-Yao-Fang; Visceral hypersensitivity; Brain-derived neurotrophic factor (BDNF); Substance P(SP)

肠易激综合征(Irritable Bowel Syndrome, IBS) 是世界范围内最常见的肠脑互动紊乱的疾病之一，据估计全球约有 10%的人受到影响[1]，其中我国以腹泻型肠易激综合征(IBS-D)最为多见[2]。临床上该病以腹部不适、排便习惯或大便性状异常为主要特征[3]，其病程容易迁延反复发作，严重影响患者身心健康[4]。IBS 发病机制尚未十分明确，但该病的病因之一内脏高敏是公认的病理生理基础[4, 5]，内脏高敏的发生是一个复杂的病理过程，其作用机制亦未完全明确，脑肠肽（Brain gut peptide）异常表达与内脏高敏密切相关[6]，其中 P 物质(Substance P, SP)、脑源性神经营养因子(Brain-derived neurotrophic factor, BDNF)作为相关神经肽参与了 IBS-D 的发展过程，对肠神经系统具有调节作用[7, 8]。IBS-D 的治疗目前指南推荐采用止泻药、解痉药、益生菌、精神药物治疗等方式[9]，但多数患者使用指南推荐的一线药物后症状难以改善[10]，转而寻求中医药治疗。既往研究表明痛泻要方可以通过调节脑-肠轴[11-13]、内脏高敏[14, 15]、肠道通透性[16]、BDNF 表达[17]，改善 IBS-D 腹痛和腹泻症状。

前期研究发现[17]，痛泻要方科调节大鼠海马及结肠组织中的 BDNF mRNA 表达，呈现双向调整脑肠轴的作用。中医认为肝郁脾虚是 IBS-D 基本病机，常用痛泻要方治疗[6]，方中“抑木”组分之白芍防风善于柔肝理气止痛，“培土”组分之陈皮白术长于补脾胜湿止泻，四药合用，补脾柔肝，共奏佳效。然而，目前的临床证据多关注痛泻要方整体药物的疗效及机制。基于中医理论及前期研究成果，我们推测“抑木”组分白芍防风是缓解内脏高敏、改善腹痛腹部不适症状的重要部分。本研究将痛泻要方拆分为“抑木”组分白芍防风组（B-F）与“培土”组分陈皮白术组（C-B），以 IBS-D 模型大鼠为研究对象，以 BDNF 和 SP 表达为切入点，在前期证实痛泻要方有效性的基础上[18] ，深入探索痛泻要方治疗 IBS-D 的作用机制。

1.材料与方法

1.1 实验动物与分组

选用成年雄性 Wistar 大鼠，共 32 只，体重为 190±20g，采购于成都达硕生物技术有限公司，动物生产许可证号：SYXK（川）2020- 030 号，饲养于标准 II 级动物房，室温 21±2□之间，相对湿度为 50±10%，明暗比 1:1。固定每天 8:00AM-14:00PM 之间进行实验，实验期间不限制大鼠进食饮水。适应性饲养 7 天后，采用抽签法随机分为空白组、模型组、B-F 组和 C-B 组，每组各 8 只大鼠。实验方案通过成都中医药大学附属医院实验动物伦理审查，伦理编号：2020DL-001。

1.2 主要试剂及药物

戊巴比妥钠（上海斯信生物科技有限公司）；BCA 蛋白浓度测定试剂盒（上海西唐生物科技有限公司，批号：WB101）、BDNF 酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒（上海西唐生物科技有限公司，批号：F15100），SP ELISA 试剂盒（上海西唐生物科技有限公司，批号：F16804）。白术、白芍、陈皮、防风 4 味中药按照 6：4：3：2 配伍，中药由四川省中医院中药房采购于四川新荷花中药饮片公司，并由该院药剂科经浸泡、煎煮、过滤浓缩等工艺制作中药浸膏混悬液。

1.3 造模方法

参照文献复制 IBS-D 大鼠实验模型，除空白组外，其余各组大鼠均采用结直肠扩张[19]+慢性束缚应激[20]的造模方法建立内脏敏感型 IBS-D 大鼠模型。结直肠扩张：将自制的球囊涂抹石蜡油后塞进大鼠肛门约 7cm，在肛门外 1cm 处用胶带将其固定在大鼠尾根部，在 80mmHg 球囊的压力下维持 5 分钟，球囊每次使用前后均需要进行酒精消毒处理。慢性束缚应激：将大鼠仰卧位固定于束缚架(20cm×6cm×5cm)上 2 小时，限制活动。每天 1 次，共 14 天。使用腹部退缩反射评分(Abdominal withdrawal reflex, AWR)[21]评价模型大鼠内脏敏感性，AWR 评分在 3 分以下者视为造模失败。

1.4 干预方法

200g 大鼠每日生药饮片用量[22]：白芍 1.8g/kg、防风 0.9g/kg、陈皮 1.35g/kg、白术 2.7g/kg。浸膏溶液浓度为：白芍 0.18g/ml、 防风 0.09g/ml、陈皮 0.135g/ml、白术 0.27g/ml；白芍防风浸膏溶液浓度为 0.27g/ml、陈皮白术浸膏溶液浓度为 0.405g/ml。空白组和模型组均予 5ml/kg 蒸馏水灌胃，B-F 组予以白芍防风浸膏灌胃，C-B 组予以陈皮白术浸膏灌胃，每组灌胃容积为 200g/ml，每日一次，共 14 天。

1.5 观察指标及检测方法

一般状态：观察各组大鼠的精神状况、活动情况、皮毛色泽、饮食量及每 7 天体重变化情况。大便性状：分别于造模前 1 天、治疗前（第 13 天）和治疗后（第 21 天）对每只大鼠单笼饲养，收集 12:00—18:00 粪便，依据布里斯托（Bristol）粪便评分对大便进行分级评分。

AWR 评分：于治疗前（第 14 天上午）及治疗后（第 22 天上午）各检测 1 次，检测前 18 小时大鼠仅饮水。检测时将自制的球囊涂抹石蜡油后塞进大鼠肛门内约 7cm，用血压计向球囊内缓慢加压，观察大鼠在 20mmHg、40mmHg、60mmHg 和 80mmHg 四个压力梯度下对球囊扩张刺激的反应，每个压力梯度测 3 次取评分均值，每次测量间隔 5 min。AWR 评分由 2 名不知道实验分组的工作人员共同进行。

结肠和海马体组织 BDNF、SP 表达检测：检测采用 ELISA 试剂盒。治疗结束后 1 天，每只大鼠按 2.5ml/kg 的剂量予 2%戊巴比妥钠腹腔注射，麻醉后迅速沿大鼠腹中线用剪刀剖开腹部暴露肠道，取出完整结肠片段长约 2cm。同时用咬钳咬开大鼠颅骨，剥离完整大鼠海马体组织。将组织标本转移至-80□冰箱中保存直至检测。参照试剂盒说明书操作，酶标仪测定 450nm 处 OD 值，分别计算大鼠结肠组织和海马组织 BDNF、SP 含量。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 25.0 软件进行数据处理，正态分布资料用平均数（ $\bar{x} \pm s$ ）表示。符合正态

分布且方差齐用单因素方差分析，并采用 LSD 法进行组间多重比较；若不满足正态分布或方差不齐则用 Kruskal-Wallis 检验，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2.实验结果

2.1 大鼠一般状态

造模前大鼠精神状态良好，活泼好动，情绪平和，皮毛顺滑有光泽，肛门周围较为清洁。

造模后的大鼠逐渐出现精神萎靡，活动减少，易躁动或畏惧，饮食饮水量减少，皮毛晦暗易脱落，肛门周围有较多稀便附着。

B-F 组和 C-B 组大鼠治疗后，精神状态较治疗前有不同程度好转，活动增多，反应迅速，饮食饮水量恢复；皮毛逐渐恢复光泽，肛门周围较模型组干净。

2.2 大鼠体重增长量

造模前各组间大鼠体重差异无统计学意义（$P>0.05$）；与空白组比较，模型组、B-F 组和 C-B 组大鼠造模后（第 14 天）体重增长缓慢，存在显著性差异（$P<0.05$），意味着造模对大鼠体重增长有影响；与模型组比较，B-F 组和 C-B 组大鼠治疗后体重增长迅速回升（$P<0.05$）。B-F 组及 C-B 组大鼠体重增长差异无统计学意义（$P>0.05$），但整体 B-F 组大鼠体重增长较多。见表 1。

表 1：各组大鼠体重增长比较（ $\bar{\chi}\pm s$，g）

Table 1 Comparison of weight gain of rats in each group

组别	第 1 天(造模前)	第 7 天	第 14 天(造模后/治疗前)	第 21 天	第 28 天(治疗后)
空白组	193.850±12.15	29.96±7.86^{b}	26.06±9.69^{b}	37.29±9.08^{b}	34.65±9.18^{b}
模型组	196.81±11.76	9.98±3.81^{a}	14.78±4.74^{a}	18.25±5.19^{a}	21.00±2.59^{a}
B-F 组	195.60±11.44	8.83±8.59^{a}	16.00±4.59^{a}	38.39±10.88^{b}	30.19±6.87^{b}
C-B 组	192.46±10.01	9.41±3.72^{a}	16.31±3.55^{a}	33.25±5.97^{b}	28.00±5.71^{b}

注：与空白组同期比较，$^{a}P<0.05$；与模型组同期比较，$^{b}P<0.05$

2.3大鼠Bristol粪便评分

造模前各组大鼠Bristol评分无显著差异（$P>0.05$）。造模后，除空白组外，模型组、B-F组和C-B组Bristol评分显著升高（$P<0.05$），说明造模成功。与模型组比较，B-F组和C-B组治疗后Bristol评分均下降（$P<0.05$），但两者比较差异没有统计学意义（$P>0.05$）。见表2。

表 2：各组大鼠 Bristol 粪便评分（ $\bar{\chi}\pm s$）

Table 2 Bristol stool scales of rats in each group

组别	Bristol 评分		
	造模前	造模后	治疗后
空白组	3.88±0.64	3.88±0.64	3.88±0.83
模型组	3.88±0.83	6.13±0.83^{a}	5.88±0.99^{a}
B-F 组	3.75±0.70	5.88±0.64^{a}	4.13±0.83^{b}
C-B 组	3.88±0.64	6.00±0.76^{a}	4.13±0.99^{b}
χ^2 值	0.217	17.918	12.602
P 值	0.957	＜0.000	＜0.000

注：与空白组同期比较，$^{a}P<0.05$；与模型组同期比较，$^{b}P<0.05$

2.4 AWR评分

2.4.1造模后AWR评分

在气囊压力为20mmHg、40mmHg、60mmHg和80mmHg时，各组大鼠与空白组比较AWR评分比较有差异（P<0.05），而模型组、B-F组和C-B组之间未见明显差异（P>0.05），说明大鼠内脏敏感性有增高。在气囊压力为80mmHg时，各组大鼠AWR评分比较P =0.075>0.05，各组间AWR评分无明显差异。见图1。

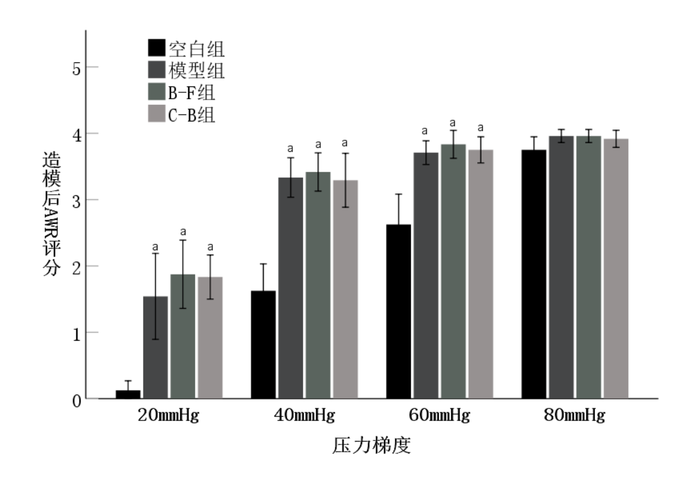


图1：造模后各组AWR评分比较（与空白组在相同压力下比较， [a] P<0.05）

Figure 1 comparison of AWR scores of each group after modeling

2.4.2治疗后AWR评分

在压力为20mmHg时，各组大鼠AWR评分无差异（P=0.084>0.05）。在压力为40mmHg时，各组大鼠AWR评分有差异（P<0.000）。与空白组比较，模型组和C-B组AWR评分明显升高，而B-F组评分比模型组AWR评分明显降低。在压力为60mmHg时，各组大鼠AWR评分有差异（P<0.05）。与空白组比较，模型组AWR评分明显升高，而B-F组评分比模型组明显降低；与C-B组比较，B-F组降低明显。在压力为80mmHg时，B-F组AWR评分较其余各组降低明显（P<0.05），内脏敏感性低于模型组。见图2。

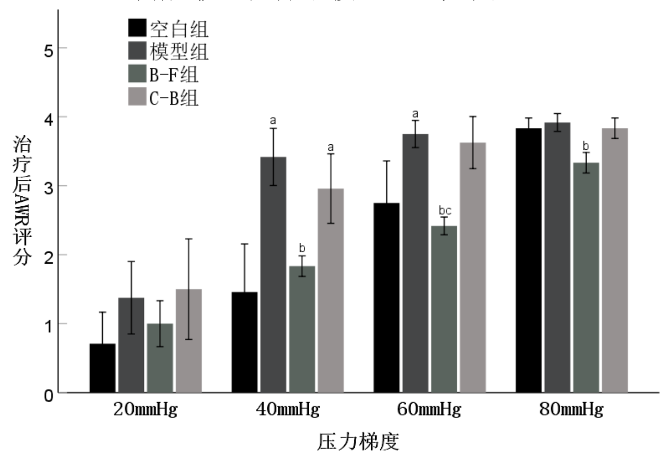


图2：治疗后各组AWR评分比较（与空白组在相同压力下比较， [a] P<0.05; 与模型组在相同

压力下比较，^{b}P<0.05；与C-B组在相同压力下比较，^{c}P<0.05）

Figure 2 Comparison of AWR scores in each group after treatment

2.5 大鼠结肠和海马BDNF和SP水平测定

BDNF在模型大鼠结肠组织中呈现高表达，在海马组织中呈现相对低表达。与模型组比较，B-F组BDNF在结肠组织中的表达明显降低（P<0.05）。与模型组比较，B-F组BDNF在海马体中的表达明显升高（P<0.05）。见图3。

与空白组比较，模型组、C-B组结肠及海马体的SP表达均明显升高（P<0.05）；与模型组比较，B-F组结肠及海马体的 SP表达量明显降低 (P<0.05)，而C-B组结肠及海马体SP表达量未见明显下降。见图3。

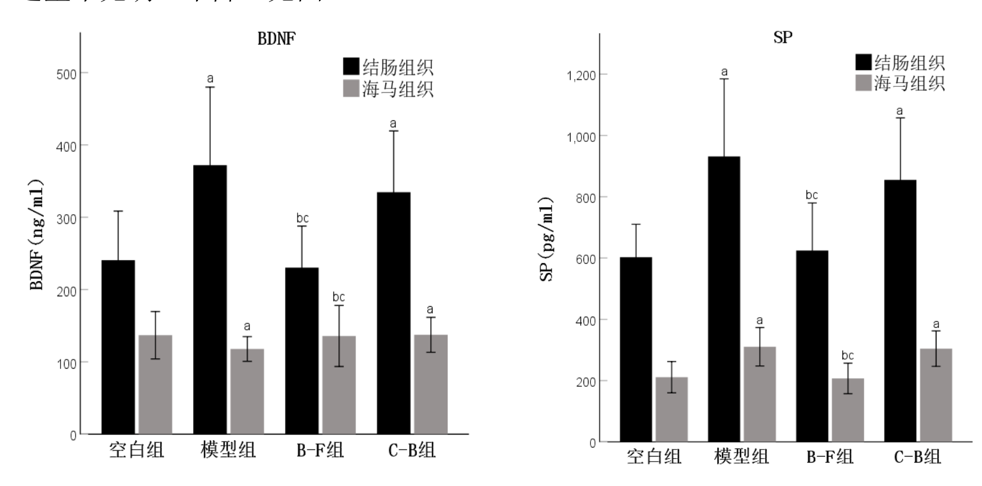


图3：BDNF与SP表达水平（与空白组比较，^{a}P<0.05；与模型组比较，^{b}P<0.05；与C-B组比较，^{c}P<0.05）

Figure 3 Expression levels of BDNF and SP

3.讨论

IBS 是一种脑-肠交互紊乱的疾病，其特征是腹痛和排便习惯改变[1]。腹痛腹胀症状是内脏高敏反应的典型特征，是区分 IBS 与其他功能性胃肠疾病的重要临床标志物[23]。BDNF 与 SP 等其他脑肠肽相互作用以调节肠道感觉并影响结肠敏感性[24]。AWR 评分是量化肠道敏感性的一个重要指标[25]，能够体现大鼠肠道敏感性变化情况。本研究通过拆解痛泻要方，从中枢及外周 BDNF、SP 表达切入，探讨痛泻要方中“抑木”组分白芍防风缓解 IBS-D 的内脏高敏的疗效机制。

BDNF 是感知疼痛的重要调节因子[26, 27]，在大脑中活跃于海马皮层，参与神经元功能的调节，适量的 BDNF 可以维持感觉神经的正常功能，BDNF 异常升高会导致各种疼痛相关的感觉，如慢性疼痛、炎症性疼痛和内脏痛[24]，并可能与 IBS 患者焦虑和抑郁症状存在关联[28]。也有充分的证据表明 BDNF 在内脏高敏反应中发挥重要作用[29]。

SP 异常表达与内脏超敏密切相关[30]，其参与了内脏的痛觉传递和痛觉调制过程，在内脏高敏性及调控痛敏感中发挥作用[31, 32]，海马中 SP 可参与情绪及应激功能调节[33]，包括压力和焦虑相关行为[34]。有研究发现[35]在 IBS-D 患者肠粘膜中存在 SP 阳性细胞数目和染色强度增加，认为高表达的 SP 与 IBS-D 腹痛、腹泻症状具有显著相关性。SP 作为一种胃肠激素，SP 会促进肠蠕动、增高结肠内压力、从而易引起腹泻。

痛泻要方作为治疗 IBS-D 常用方剂之一[18]，它能有效缓解腹痛和腹泻，并恢复患者消化道的稳态[36]。痛泻要方可通过下调 SP 表达，改善大便，缓解腹痛、腹泻症状，有效提高

生活质量[35]。在本实验中，IBS-D 模型大鼠的肠道敏感性显著增加，治疗后，B-F 组 AWR 评分显著降低至与空白组相近，肠道敏感性显著降低，而 C-B 组对 AWR 评分无显著影响。模型组 BDNF 和 SP 在结肠内的表达显著增加，而在海马体内 BDNF 表达降低，SP 表达增加。这表明它们共同参与了 IBS-D 内脏高敏反应的形成。治疗后，白芍防风能更显著地下调结肠组织中 BDNF 和 SP 的表达，上调海马体内 BDNF 的表达，修复脑肠肽的平衡，缓解 IBS-D 症状优于陈皮白术。

中医认为 IBS 最常见的中医证型为肝郁脾虚型，其基本病机为脾虚肝盛而乘脾[6]。朱丹溪记载的痛泻要方是治疗此病的经典中医方剂之一。关于痛泻要方，吴琨的《医方考》中："痛泻不止，此方主之。"以痛、泻二字概括了 IBS-D 的特点。《医方集解》认为痛泻要方全部是足太阴、厥阴经药物，旨在"泻木而益土"。白术味甘苦、性温，甘以补脾胃之虚，苦温以燥湿肠中之湿；陈皮味辛苦、性温，辛温而助白术燥湿醒脾、兼而理气；白芍味酸、性微寒，可泻肝火而酸阴柔肝，以达到理肝气、缓中止痛的效果；防风味辛甘、性微温，既能辛散肝中郁气，又香醒脾气，辛温又能助白术除湿而止泻，且为脾经引经药。全方四药相配，补脾虚柔肝阴，理肠中之气，清肠中之湿，共奏止泻止痛之功。

综上，痛泻要方中的白芍防风药对可更佳的双向逆转调节 BDNF 的表达，表现为下调结肠组织 BDNF 的表达，上调海马组织 BDNF 的表达。白芍防风能显著下调 IBS-D 模型大鼠结肠组织中 BDNF 和 SP 的表达，从而改善肠道高敏状态，缓解腹泻症状。本实验中，白芍防风合用起效主要脏器在肝，发挥柔肝止痛之功缓解内脏高敏，白芍酸柔养肝理气缓急以收涩止泻助防风之力；陈皮白术合用起效在脾，发挥补脾燥湿理气之功以培土止泻。结合实验结果，白芍防风合用治疗 IBS-D 止泻、降低内脏敏感性效果更佳，提示重视肝之调达疏泄在治疗 IBS-D 中的重要作用，从肝论治可提高中医药防治 IBS-D 的临床疗效。

作者贡献：陈敏提出研究的构思与设计，负责研究的实施推进与可行性分析；王科凯、谢欣负责论文起草，并进行结果的分析与解释；杨焱麟、周彦妮、王科凯负责动物模型的制备、实验指标的检测；吴芹萍、王科凯进行数据收集、整理；肖瑾、谢欣进行统计分析、绘制图表。

本文无利益冲突。

[1] BLACK C J, FORD A C. Global burden of irritable bowel syndrome: trends, predictions and risk factors [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2020, 17(8): 473-86. DOI: 10.1038/s41575-020-0286-8.

[2] 张声生, 汪红兵, 李振华, 等. 360 例腹泻型肠易激综合征的聚类分析及证候特征研究 [J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(08): 1183-7.

[3] MEARIN F, LACY B E, CHANG L, et al. Bowel Disorders [J]. Gastroenterology, 2016. DOI: 10.1053/j.gastro.2016.02.031

[4] CHEY W D, KURLANDER J, ESWARAN S. Irritable bowel syndrome: a clinical review [J]. JAMA, 2015, 313(9): 949-58. DOI: 10.1001/jama.2015.0954.

[5] MUJAGIC Z, JONKERS D, HUNGIN A P S, et al. Use of Rome criteria for the diagnosis of irritable bowel syndrome in primary care: a survey among European countries [J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2017, 29(6): 651-6. DOI: 10.1097/MEG.0000000000000848

[6] 何力, 杨力, 凌志维, 等. 基于脑肠交互机制探讨肠道微生物调节 IBS-D 内脏高敏的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 0(11). DOI： 10.13422/j.cnki.syfjx.20191129

[7] ZHANG Y, QIN G, LIU D R, et al. Increased expression of brain-derived neurotrophic factor is correlated with visceral hypersensitivity in patients with diarrhea-predominant irritable bowel

syndrome [J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(2): 269-81. DOI: 10.3748/wjg.v25.i2.269
[8] FAN F, TANG Y, DAI H, et al. Blockade of BDNF signalling attenuates chronic visceral hypersensitivity in an IBS-like rat model [J]. Eur J Pain, 2020, 24(4): 839-50. DOI: 10.1002/ejp.1534
[9] MOAYYEDI P, ANDREWS C N, MACQUEEN G, et al. Canadian Association of Gastroenterology Clinical Practice Guideline for the Management of Irritable Bowel Syndrome (IBS) [J]. J Can Assoc Gastroenterol, 2019, 2(1): 6-29. DOI: 10.1093/jcag/gwy071
[10] HäUSER W, MARSCHALL U, LAYER P, et al. The Prevalence, Comorbidity, Management and Costs of Irritable Bowel Syndrome [J]. Deutsches Arzteblatt international, 2019, 116(27-28): 463-70. DOI: 10.3238/arztebl.2019.0463
[11] HU X G, XU D, ZHAO Y, et al. The alleviating pain effect of aqueous extract from tong-xie-yao-fang, on experimental visceral hypersensitivity and its mechanism [J]. Biol Pharm Bull, 2009, 32(6): 1075-9. DOI: 10.1248/bpb.32.1075
[12] 尹小君，施茵，赵继梦．从脑-肠轴角度探讨肠易激综合征及其中医治疗 [J]．中华中医药学刊, 2011, 29(10): 2197-201. DOI： 10.13193/j.archtcm.2011.10.47.yinxj.026
[13] GRACIE D J, HAMLIN P J, FORD A C. The influence of the brain-gut axis in inflammatory bowel disease and possible implications for treatment [J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2019, 4(8): 632-42. DOI: 10.1016/S2468-1253(19)30089-5
[14] YIN Y, ZHONG L, WANG J W, et al. Tong Xie Yao Fang relieves irritable bowel syndrome in rats via mechanisms involving regulation of 5-hydroxytryptamine and substance P [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(15): 4536-46. DOI: 10.3748/wjg.v21.i15.4536
[15] LIN Y, DING Y, Lü B, et al. Effect of Tongxieyaofang decoction on colonic mucosal protein expression profiles in rats with visceral hypersensitivity [J]. J Tradit Chin Med, 2020, 40(2): 245-52. DOI: 10.19852/j.cnki.jtcm.2020.02.008
[16] HOU Q, HUANG Y, ZHU Z, et al. Tong-Xie-Yao-Fang improves intestinal permeability in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome rats by inhibiting the NF-κB and notch signalling pathways [J]. BMC Complement Altern Med, 2019, 19(1): 337. DOI: 10.1186/s12906-019-2749-4
[17] 陈敏，黄德铨，唐太春，等．痛泻要方调控 BDNFmRNA 表达缓解肠易激综合征腹泻大鼠内脏高敏的机制研究 [J]．中华中医药学刊，2017, 35(12): 3095-7. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2017.12.029
[18] CHEN M, TANG T C, WANG Y, et al. Randomised clinical trial: Tong-Xie-Yao-Fang granules versus placebo for patients with diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2018, 48(2): 160-8. DOI: 10.1111/apt.14817
[19] JIN D, LIU Y, LV S, et al. Electroacupuncture and Moxibustion Modulate the BDNF and TrkB Expression in the Colon and Dorsal Root Ganglia of IBS Rats with Visceral Hypersensitivity [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021(8137244. DOI: 10.1155/2021/8137244
[20] 周天然，张瑶，逯晓旭，等．慢性束缚应激腹泻型肠易激综合征大鼠模型的改良与评价 [J]．广州中医药大学学报, 2018, 35(01): 163-8. DOI：10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2018.01.0032
[21] 陈颖，赵妍，罗丹妮，等．腹壁撤退反射实验测量方法概述 [J]．中国比较医学杂志，2017, 27(08): 89-93. DOI：10.3969.j.issn.1671-7856.2017.08.018
[22] 魏伟，吴希美，李元建．药理实验方法学 [M]．北京：人民卫生出版社, 2010: 89-95.
[23] ZHAO Y, JIANG H L, SHI Y, et al. Electroacupuncture Alleviates Visceral Hypersensitivity in IBS-D Rats by Inhibiting EGCs Activity through Regulating BDNF/TrkB Signaling Pathway [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022(2497430. DOI: 10.1155/2022/2497430
[24] MOLONEY R D, DINAN T G, CRYAN J F. Strain-dependent variations in visceral sensitivity:

relationship to stress, anxiety and spinal glutamate transporter expression [J]. Genes, brain, and behavior, 2015, 14(4): 319-29. DOI: 10.1111/gbb.12216

[25] ZHAO C, LIN M, PAN Y, et al. Blockage of High-Affinity Choline Transporter Increases Visceral Hypersensitivity in Rats with Chronic Stress [J]. Gastroenterology research and practice, 2018, 2018(9252984. DOI: 10.1155/2018/9252984

[26] KOWIAŃSKI P, LIETZAU G, CZUBA E, et al. BDNF: A Key Factor with Multipotent Impact on Brain Signaling and Synaptic Plasticity [J]. Cellular and molecular neurobiology, 2018, 38(3): 579-93. DOI: 10.1007/s10571-017-0510-4

[27] CAPPOLI N, TABOLACCI E, ACETO P, et al. The emerging role of the BDNF-TrkB signaling pathway in the modulation of pain perception [J]. Journal of neuroimmunology, 2020, 349(577406. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2020.577406

[28] ZHANG Y, BI Y X, CHEN J, et al. Association of Peroxiredoxin 1 and brain-derived neurotrophic factor serum levels with depression and anxiety symptoms in patients with irritable bowel syndrome [J]. General hospital psychiatry, 2021, 68(59-64. DOI: 10.1016/j.genhosppsych.2020.11.010

[29] KONTUREK T J, MARTINEZ C, NIESLER B, et al. The Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor in Irritable Bowel Syndrome [J]. Front Psychiatry, 2020, 11(531385. DOI: 10.3389/fpsyt.2020.531385

[30] 杨焱麟, 陈敏, 周彦妮, 等. P 物质与肝郁脾虚型腹泻型肠易激综合征关系及中医药调控的研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(09): 82-5. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2021.09.022

[31] ZIEGLGäNSBERGER W. Substance P and pain chronicity [J]. Cell and tissue research, 2019, 375(1): 227-41. DOI: 10.1007/s00441-018-2922-y

[32] 旺建伟, 叶虹玉, 殷越, 等. 痛泻要方对肠易激综合征内脏高敏性大鼠结肠组织肥大细胞活化、P 物质表达及相关性的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(06): 1982-6.

[33] HARRIS J A, FAUST B, GONDIN A B, et al. Selective G protein signaling driven by substance P-neurokinin receptor dynamics [J]. Nature chemical biology, 2022, 18(1): 109-15. DOI: 10.1038/s41589-021-00890-8

[34] IFTIKHAR K, SIDDIQ A, BAIG S G, et al. Substance P: A neuropeptide involved in the psychopathology of anxiety disorders [J]. Neuropeptides, 2020, 79(101993. DOI: 10.1016/j.npep.2019.101993

[35] 孔梅, 邢长永, 王莺. 痛泻要方颗粒剂干预腹泻型肠易激综合征结肠黏膜 VIP、SP 表达的临床研究 [J]. 中药材, 2010, 33(10): 1668-71. DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2010.10.013

[36] PAN F, ZHANG T, ZHANG Y H, et al. Effect of Tongxie Yaofang Granule in treating diarrhea-predominate irritable bowel syndrome [J]. Chin J Integr Med, 2009, 15(3): 216-9. DOI: 10.1007/s11655-009-0216-7